(5) Int. Cl.<sup>5</sup>: **G 02 B 7/28** G 02 B 7/36 G 02 B 21/24



DEUTSCHES

PATENTAMT

② Aktenzeichen:

P 42 26 523.1

Anmeldetag:

11. 8.92

Offenlegungstag:

7. 2.94

7 Anmelder:

Bloss, Werner Heinz, Prof. Dr.-Ing., 73650 Winterbach, DE

Wertreter:

Wilhelm, H., Dr. Ing.; Dauster, H., Dipl.-Ing., Pat.-Anwälte, 70174 Stuttgart ② Erfinder:

Schlipf, Wolfgang, 7067 Urbach, DE; Fischer, Jochen, 7030 Böblingen, DE

(S) Verfahren und Vorrichtung zum automatischen Fokussieren auf Objekte

Tim suf ein Objekt eines mikroskopischen Präparates, insbesondere eines zytologischen Präparates; bei einer elektronischen Bildverarbeitung automatisch Fokussieren zu können, wird vorgesehen, daß ein Teilbild mit diesem Objekt gebildet wird, auf das in einem Regelkreis fokussiert wird. Dabei werden aus dem Teilbild ein oder mehrere Signale aufbereitet, die weitergeleitet werden und anhand derer ein oder mehrere Fokuskriterien berechnet werden, aus welchem dann die Stellgröße für einen Fokussteller abgeleitet wird.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum automatischen Fokussieren auf Objekte bei der Bildverarbeitung von mikroskopischen Präparaten mit einer elektronischen Bildaufnahmekamera, die Bilder an einem Bilderzeugungssystem aufnimmt und an ein Bildverarbeitungssystem liefert, und eine Vorrichtung zum Durchführen des Verfahrens.

Es ist bekannt ("Autofokus zur schnellen Verarbeitung mikroskopischer Präparate", Informatik Fachberichte 290 Mustererkennung 1991, 13. DAGM Symposium, München Springer Verlag, S. 367 bis S. 372), ein Bild mit Objekten in mehreren Fokusebenen aufzunehmen und mittels eines Fokuskriteriums die relativ schärfste 15 Fokusebene zu lokalisieren. Das Fokuskriterium benutzt das Differenzenquadrat zusammen mit einer Bandpaßfilterung zur Rauschunterdrückung und einer Grauwertschwelle, um die Auswertung auf Bereiche mit relevanten Objekten zu beschränken.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren und eine Vorrichtung zu schaffen, mit welchem eine sehr genaue, aus dem Bildinhalt ableitbare Fokussierung einzelner relevanter Objekte möglich ist.

Diese Aufgabe wird dadurch gelöst, daß ein Teilbild 25 mit einem Objekt gebildet wird, auf das in einem Regelkreis fokussiert wird, wobei aus dem Teilbild Signale aufbereitet werden, anhand welcher ein oder mehrere Fokuskriterien berechnet werden, aus welchem eine Stellgröße für einen Fokussteller abgeleitet wird.

Gemäß der Erfindung erfolgt das Fokussieren auf ein einzelnes Objekt in einem Regelkreis, der so lange arbeitet, bis die Stellgröße für den Fokussteller zur Korrektur verschwindet, d. h. ein dem Fokuskriterium entsprechendes, optimales Bild am Bildaufnahmesystem 35 eingestellt ist.

Zur Durchführung des Verfahrens wird eine Vorrichtung vorgesehen, die einen Regelkreis für einen Fokussteller enthält, welcher Mittel zum Erzeugen eines Bildes. Mittel zum Erzeugen eines ein relevantes Objekt 40 enthaltenden Teilbildes und zum Aufbereiten des Teilbildes zu Signalen, Mittel zum Berechnen von wenigstens einem Fokuskriterium aus diesen Signalen und Mittel zum Ableiten von Stellgrößen für den Fokussteller enthält

Wenn diese Vorrichtung in schneller Elektronik ausgeführt wird, so werden sehr kurze Einstellzeiten für das Einstellen des richtigen Fokuswertes erreicht.

Weitere Merkmale und Vorteile der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung des in der 50 Zeichnung dargestellten Ausführungsbeispiels und den Unteransprüchen.

Fig. 1 zeigt ein Blockdiagramm einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zum Durchführen des erfindungsgemäßen Verfahrens,

Fig. 2 eine schematische Darstellung einer einer Autofokuskamera vorgeschalteten Optik zum gleichzeitigen Gewinnen eines Bildes in drei unterschiedlichen Fokusebenen.

Fig. 3 eine andere Ausführungsform eines einer Autofokuskamera vorgeschalteten optischen Systems zur
Gewinnung eines Bildes in drei Fokusebenen und

Fig. 4 eine schematische Darstellung des Bildes in drei unterschiedlichen Fokusebenen mit jeweils ein Objekt enthaltenden Teilbildern.

Bei der Ausführungsform nach Fig. 1 ist eine elektronische Bildaufnahmekamera (10) einem Bilderzeugungssystem (11) zugeordnet, das typischerweise ein Mikro-

skop ist. Dieses Mikroskop erzeugt Bilder, insbesondere von zytologischen Präparaten, die zwischen einem Objektträger und einem Deckglas in einem Einbettmedium eingebettet sind. Die von der Bildaufnahmekamera (10) aufgenommenen Bilder werden in ein Bildverarbeitungssystem (12) eingelesen und dort ausgewertet. Dem Bilderzeugungssystem (11) ist ein Fokussteller (13) zugeordnet, der üblicherweise der Z-Antrieb eines Mikroskopes ist.

Das Bild des Bilderzeugungssystems (11) wird des weiteren von einer Fokuskamera (14) aufgenommen, die für die Fokussierung speziell eingerichtet ist, wie später noch erläutert werden wird. Das Bild der Fokuskamera (14), das dem von der Bildaufnahmekamera (10) aufgenommenen Bild entspricht, wird einer Einheit (15) zur Signalaufbereitung zugeführt, die aus dem Bild Signale ausbereitet, die an eine Einheit (16) zur Berechnung von einem oder mehreren Fokuskriterien weitergeleitet werden. Das eine oder die mehreren Fokuskriterien werden an eine Einheit (17) weitergereicht, die daraus eine Stellgröße für den Fokussteller (13) ableitet und an diesen Fokussteller (13) weitergibt. Der Fokussteller (13) führt die vorgegebene Korrektur aus, so daß damit der Regelkreis geschlossen ist. Dieser Regelkreis arbeitet so lange, bis die Stellgröße der Einheit (17) verschwindet, d. h. ein dem Fokuskriterium entsprechendes optimales Bild an dem Bilderzeugungssystem vorliegt, das an das Bildverarbeitungssystem (12) weitergeleitet und auch noch von diesem weitergegeben werden kann.

Dem eigentlichen Fokussieren geht voraus, daß festgelegt wird, auf welches Objekt das Fokussieren erfolgt. Diese Festlegung erfolgt in dem von der Bildaufnahmekamera (10) aufgenommenen Bild, das zunächst noch unscharf ist, in dem Bildverarbeitungssystem (12). Dort wird die Entscheidung getroffen, wo interessante Objekte liegen können und wie groß diese Objekte ungefähr sind. Die Auswahl des Objektes erfolgt anhand einer oder mehrerer für das Objekt charakteristischen Eigenschaft, beispielsweise einer Farbe oder eines Grauwertes o. dgl Die Autofokuskamera (14) liefert das aufgenommene Bild dreifach, das von den in drei voneinander in definiertem Abstand liegenden Fokusebenen aufgenommen wird. Dies kann dadurch geschehen, daß nacheinander drei Bilder mit verschiedener Fokuseinstellung aufgenommen werden. Bevorzugt wird jedoch vorgesehen, daß die Autofokuskamera (14) gleichzeitig das Bild aus drei verschiedenen Fokusebenen liefert. Dies ist dadurch möglich, daß für den Strahlengang der Autofokuskamera drei unterschiedliche Weglängen vorgesehen sind, mit denen das Bild dreifach nebeneinander abgebildet wird, wie dies in Fig. 4 dargestellt ist.

Gemäß dem Ausführungsbeispiel nach Fig. 2 werden unterschiedliche Weglängen vorgesehen. In dem von dem Bildaufnahmesystem (11) kommenden Strahlengang ist ein Strahlteiler (18) angeordnet, der das Bild zu dem Kamerasensor (19) der Autofokuskamera (14) umlenkt. In dem umgelenkten Strahlengang sind zwei weitere Strahlteiler (20, 21) und ein Spiegel (22) derart angeordnet, daß das gleiche Bild (24, 25, 26), wie dies in Fig. 4 dargestellt ist, mit unterschiedlicher Schärfe auf dem Kamerasensor (19) nebeneinander abgebildet wird. Auf diese Weise wird das sogenannte "Dual-out-of-Focus-Prinzip" angewandt, bei welchem das Bild (24) der mittleren Fokusebene scharf ist, wenn die beiden Bilder (23, 25) der jeweils anderen Fokusebenen gleich unscharf sind.

Wie in Fig. 3 dargestellt ist, läßt sich der gleiche Effekt auch dadurch erhalten, daß zwar gleich lange Weg.

stücke vorgesehen werden, jedoch unterschiedliche Weglängenstücke in einem optisch dichteren Medium (Glas). In dem von dem Bildaufnahmesystem kommenden Strahl, der von einer Blende (26) begrenzt ist, sind hintereinander zwei Strahlteiler (27, 28) in Form von Prismen angeordnet, auf die ein Prisma (29) folgt. Der in dem Strahlteiler (27) umgelenkte Anteil des Lichtstrahls hat den kürzesten optischen Weg und der im Prisma (29) umgelenkte Strahlanteil den längsten optischen Weg. Die einzelnen Strahlenanteile werden mittels Prismen 10 (30, 31) und eines Strahlteilers (32) derart umgelenkt, daß das gleiche Bild auf dem Kamerasensor (19) nebeneinander abgebildet wird, wobei die Abbildungen aus unterschiedlichen Fokusebenen stammen. Der im Strahlteiler (32) nicht umgelenkte Strahlenteil kann zu 15 anderen Zwecken verwendet werden, z. B. zum Überprüfen an einem Okular.

Die drei Bilder (23, 24, 25), die das gleiche Bild in definiert unterschiedlichen Fokusebenen enthalten, werden in die Einheit (15) weitergegeben. Diese Einheit nimmt eine Signalausbereitung in der Weise vor, daß aus den Bildern (23, 24, 25) Teilbilder (36, 37, 38) maskiert werden, die an die Einheit (16) zur Berechnung eines oder mehrerer Fokuskriterien weitergegeben werden. Es spielt somit für den weiteren Fokussierungsverlauf 25 nur noch der Inhalt der Teilbilder (36, 37, 38) eine Rolle. Dabei wird auf ein Einzelobjekt (40, 40', 40'') innerhalb des Teilbildes fokussiert, ohne daß dieser Prozeß von den anderen Bildteilen beeinflußt wird. Die Lage und Größe dieses Teilbildes oder auch mehrerer Teilbilder wird von dem Bildverarbeitungssystem (12) festgelegt und an die Einheit (15) zur Signalausbereitung überge-

Ŧ.

. .

Die Auswertung der Teilbilder (36, 37, 38) besteht darin, daß aus ihnen nur bestimmte Grauwerte weitergegeben werden, die über oder unterhalb einer festgelegten Grauwertschwelle oder zwischen Grauwertschwellen liegen. Die Bereiche der Grauwerte oder die Grauwertschwellen können vorgegeben oder aber auch durch das Bildverarbeitungssystem (12) aus dem aktuellen Bild berechnet werden. Beispielsweise wird vorgesehen, daß nur relativ dunkle Ereignisse (Zellkerne, insbesondere eingefärbte Zellkerne) von Interesse sind, so daß dann nur dunkle Bildpunkte zur Auswertung an die Einheit (16) weitergereicht werden, während hellere Bildpunkte in der Einheit (15) unterdrückt werden. Die Festlegung von relevanten Grauwertschwellen kann beispielsweise in einem Grauwerthistogramm stattfinden.

Darüber hinaus sind andere Auswertungen oder zusätzliche Beeinflussungen der Teilbilder (36, 37, 38) in der Einheit (15) möglich. Insbesondere können Filterungen zur Reduzierung des Bildrauschens oder Farbselektierungen vorgenommen werden, insbesondere wenn die Autofokuskamera (14) und die Kamera (10) 55 Farbbildkameras sind.

Die in der Einheit (15) mittels der Auswertung erarbeiteten Signale der Teilbilder (36, 37, 38) werden zur Einheit (16) zur Berechnung von einem oder mehreren Fokuskriterien weitergereicht. In dieser Einheit (16) 60 werden die den drei Teilbilder (36, 37, 38) entsprechenden Signale voneinander abgetrennt, so daß in jedem vorgebbare Fokuskriterien berechnet werden können. Das oder die Fokuskriterien können vorgegeben und festgelegt sein. Es ist jedoch auch möglich, daß das Bildverarbeitungssystem (12) abhängig von dem Bildinhalt ein oder mehrere Fokuskriterien festlegt und dann vorgibt. Ein Fokuskriterium kann insbesondere ein Kon-

trastmaß sein. Es werden somit für jedes der drei Teilbilder (36, 37, 38) ein oder mehrere Fokuskriterien erhalten. Dabei kann vorgesehen werden, daß im Falle einer ungenügenden Aussage eines derartigen Fokuskriteriums eine Rückmeldung an das Bildverarbeitungssystem (12) erfolgt, mit der eine Anforderung nach einer neuen Strategie für die Einheit (15) der Signalaufbereitung und für die Einheit (16) zur Berechnung des oder der Fokuskriterien angefordert wird.

Die Tripel der Fokuskriterien werden an die Einheit (17) zur Berechnung der Stellgrößen weitergegeben. Die Berechnung der Stellgröße wird nach dem bekannten "Dual-out-of-focus"-Prinzip oder "Multi-out-of-focus"-Prinzip und/oder unter Ausnutzung weiterer Kriterien, insbesondere bereits bekannter Informationen

durchgeführt

Bevorzugt werden die Einheiten (15, 16 und 17) in schneller Elektronik ausgesührt, so daß innerhalb sehr kurzer Einstellzeiten der richtige Fokuswert erreicht wird. Bei gleicher Qualität der Fokussierung, jedoch bei deutlich höherem Zeitauswand für die Fokuseinstellung, läßt sich die gesamte Anordnung hinsichtlich der Geräte vereinsachen, indem die Einheiten (15, 16 und 17) als Sostware in dem Bildverarbeitungssystem (12) simuliert werden, wobei als Eingangssignal das Signal der Bildausnahmekamera (10) benutzt werden kann, die drei Bilder in desiniert unterschiedlichen Fokuseinstellungen ausnimmt.

#### Patentansprüche

1. Verfahren zum automatischen Fokussieren auf Objekte bei der Bildverarbeitung von mikroskopischen Präparaten, mit einer elektronischen Bildaufnahmekamera, die Bilder an einem Bilderzeugungssystem aufnimmt und an ein Bildverarbeitungssystem liefert, dadurch gekennzeichnet, daß ein Teilbild mit einem Objekt gebildet wird, auf das in einem Regelkreis fokussiert wird, wobei aus dem Teilbild Signale aufbereitet werden, anhand welcher ein oder mehrere Fokuskriterien berechnet werden, aus welchen eine Stellgröße für einen Fokussteller abgeleitet wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Ableiten der Stellgröße nach dem "Dual-out-of-focus"-Prinzip erfolgt, wozu ein Bild in drei unterschiedlichen, in definiertem Abstand zueinanderliegenden Fokusebenen aufgenommen

wird.

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Bild gleichzeitig in drei Fokusebenen über optische Wege mit definierten Längenunterschieden aufgenommen wird.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Bilder von einer gesonderten Autofokuskamera am Bilderzeugungssystem aufgenommen und an die Signalauswertung weitergeleitet werden.

5. Vorrichtung zum automatischen Fokussieren auf Objekte bei der Bildverarbeitung von mikroskopischen Präparaten, mit einer elektronischen Bildaufnahmekamera, die zwischen einem Bilderzeugungssystem und einem Bildverarbeitungssystem angeordnet ist, dadurch gekennzeichnet, daß ein Regelkreis für einen Fokussteller (13) vorgesehen ist, der Mittel (10,14) zum Erzeugen eines Bildes (23, 24, 25), Mittel (15) zum Erzeugen eines ein relevantes Objekt enthaltenden Teilbildes (36, 37, 38) und

6

zum Aufbereiten des Teilbildes zu Signalen, Mittel (16) zum Berechnen von wenigstens einem Fokuskriterium aus diesen Signalen und Mittel (17) zum Ableiten von Stellgrößen für den Fokussteller (13) enthält.

6. Vorrichtung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß eine gesonderte Autofokuskamera (14) zum Erzeugen des im Regelkreis ausgewerteten Bildes vorgesehen ist.

7. Vorrichtung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen der Autofokuskamera (14,
19) und dem Bilderzeugungssystem (11) eine optische Einrichtung (18, 20, 21, 22; 27, 28, 29, 30, 31, 32)
angeordnet ist, die zum Erzeugen des gleichen Bildes in drei unterschiedlichen Fokusebenen drei
15
Wege mit definierten optischen Wegunterschieden
aufweisen.

## Hierzu I Seite(n) Zeichnungen

esta (n. 1991). Prominio del 1995 filma del 1994 del 1995 del 1995 del 1995 del 1995 del 1995 del 1995 del 199 Prominio del 1995 de

er Tima sera un en apporto separante do unha esparante do unha esparante do unha esparante do unha esparante d Esparante de la sera de la filia de la composition de la composition de la composition de la composition de la Esparante de la composition della composit 20

.:

35

40

45

50

55

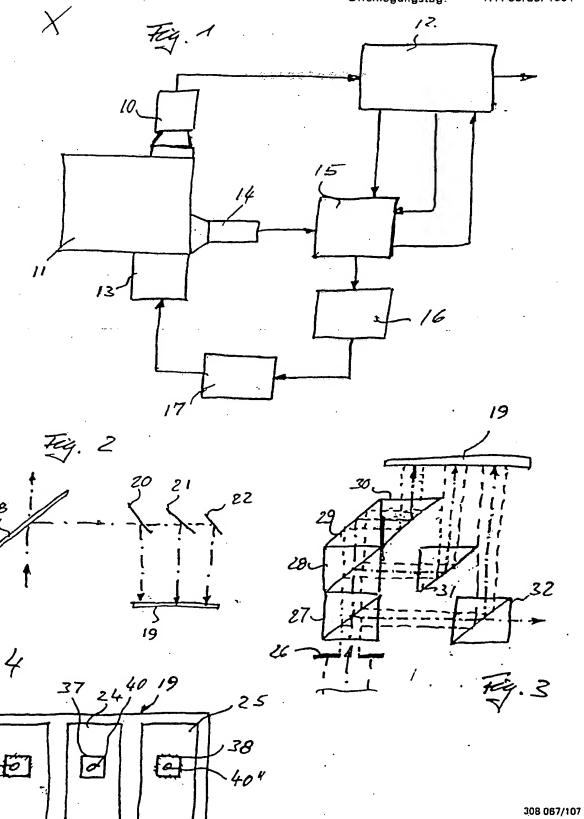
60

55

Nummer: Int. Cl.<sup>5</sup>:

Offenlegungstag:

DE 42 26 523 A1 G 02 B 7/28 17. Februar 1994



# 19. FEDERAL REPUBLIC OF GERMANY GERMAN PATENT OFFICE

12. Published patent application

10. DE 42 26 523 A1

51. Int. Cl.<sup>5</sup>:

G 02 B 7/28 G 02 B 7/36 G 02 B 21/24

21. Reference:

P 42 26 523.1

22. Application date: 11.8.92

43. Publication date: 17.2.94

71. Applicant:

Bloss, Werner Heinz, Prof. Dr.-Ing., 73650 Winterbach, DE

74. Representative:

Wilhelm, H., Dr.-Ing.; Dauster, H., Dipl.-Ing., Patent Attorneys, 70174 Stuttgart

72. Inventors:

Schlipf, Wolfgang, 7067 Urbach, DE; Fischer, Jochen, 7030 Böblingen, DE

- 54. Method and device for automatic focusing on objects
- 57. In order to be able to focus automatically on an object of a microscopic preparation, in particular a cytological preparation, during electronic image processing, it is envisaged that a partial image with this object is formed, on which focusing takes place in a control loop. For this, from the partial image one or more signals are conditioned for relaying and are used for calculating one or more focus criteria, from which the manipulated variable for a focus controller is derived.

#### DE 42 26 523 A1

## Description

The invention concerns a method for automatic focusing on objects during the image processing of microscopic preparations with an electronic imaging camera, which records images on an image generation system and supplies these to an image processing system, and a device for performing this method.

It is known ("Autofocusing for rapid processing of microscopic preparations", IT Technical Reports 290, Sample Recognition 1991, 13<sup>th</sup> DAGM Symposium, Munich Springer Verlag, pages 367 to 372) that an image with objects in several focal planes can be captured and by means of a focus criterion the relatively sharpest focal plane can be located. The focus criterion uses the square of the differences along with band pass filtering for noise suppression and a grey scale threshold, in order to restrict the analysis to areas with relevant objects.

15

5

The object of this invention is to provide a method and a device by which very accurate focusing, that can be derived from the image content, on the individual relevant objects is possible.

20

This object is achieved in that a partial image with an object is formed, upon which focusing takes place in a control loop, whereby from the partial image signals are conditioned, with which one or more focus criteria are calculated, from which a manipulated variable for a focus controller is derived.

25

According to the invention, the focusing takes place on an individual object in a control loop, which works until the manipulated variable for the focus controller for correction disappears, i.e. an optimum image corresponding to the focus criterion is set on the image capture system.

30

In order to carry out the method a device is envisaged that contains a control loop for a focus controller, which contains means for generating an image, means for generating a partial image containing a relevant object and for conditioning the partial images into signals, means for calculating at least one focus criterion from these signals and means for deriving manipulated variables for the focus controller.

35

If this device is constructed with fast electronics, then very short setting times for setting the correct focus value are achieved.

40

Further features and advantages of the invention can be seen from the following description of the embodiment shown in the drawing and from the sub-claims.

Figure 1 shows a block diagram of a device according to the invention for carrying out the method according to the invention.

Figure 2 is a schematic representation of a lens added to an autofocus camera for the simultaneous capture of an image in three different focal planes.

Figure 3 is another embodiment of an optical system added to an autofocus camera for capturing an image in three focal planes, and

Figure 4 is a schematic representation of an image in three different focal planes, each with partial images containing an object.

In the embodiment according to Figure 1 an electronic imaging camera (10) is assigned an image generation system, typically a microscope. This microscope generates images, in particular of cytological preparations, which are imbedded between an object carrier and a cover glass in an imbedding medium. The images captured by the imaging camera (10) are read into an image processing system (12) and analysed there. The image generation system (11) has a focus controller (13) assigned to it which is normally the Z-drive of a microscope.

The image from the image generation system (11) is furthermore captured by a focusing camera (14) which is specially set up for the focusing, as will be explained later in more detail. The image from the focusing camera (14), which corresponds to the image captured by the imaging camera (10), is forwarded to a signal conditioning unit (15) which, from the image, conditions signals which are relayed on to a unit (16) for the calculation of one or more focusing criteria. The one or more focusing criteria is/are forwarded to a unit (17) which derives from them a manipulated variable for the focus controller (13) and relays it to this focus controller. The focus controller (13) carries out the specified correction so that in this way the control loop is closed. This control loop works until the manipulated variable of the unit (17) disappears, i.e. an optimum image corresponding to the focus criterion is present at the image generation system, which can be forwarded to the image processing system (12) and also relayed onwards by the latter.

The actual focusing requires the determination of the object upon which to focus. This determination takes place in the image captured by the imaging camera (10), which is initially still unclear, in the image processing system (12). It is there that the decision is taken on where interesting objects may be located and approximately how big these objects are. Selection of the objects takes place on the basis of one or more characteristic properties of the object, such as a colour or a grey scale or similar. The autofocus camera (14) supplies the image captured in triplicate which has been captured from the three focal planes which are a set distance from one another. This can be achieved by capturing three images with a different focus setting one after another. It is preferably envisaged, however, that the autofocus camera (14) supply the image from three different focal planes simultaneously. This is possible in that for the beam path of the autofocus camera three different path lengths are provided, with which three of the images are displayed alongside each other, as illustrated in Figure 4.

30

35

40

25

20

According to the embodiment of Figure 2, various path lengths are envisaged. In the beam path coming from the image capture system (11) is arranged a beam splitter (18), which deflects the image to the camera sensor (19) of the autofocus camera (14). In the deflected beam path two further beam splitters (20, 21) and a mirror (22) are arranged in such a way that the same image (24, 25, 26), as shown in Figure 4, is displayed on the camera sensor (19) side by side with different levels of sharpness. In this way the so-called dual-out-of-focus principle is applied, in which the image (24) of the middle focal plane is in focus if the two images (23, 25) of the respective other focal planes are equally out of focus

10

15

20

25

35

40

45

5

As shown in Figure 3, the same effect can also be obtained in fact by providing for two identical path lengths, but different path length sections in an optically denser medium (glass). In the beam coming from the image capture system, which is delimited by a screen (26), two beam splitters (27, 28) in the form of prisms are arranged, followed by a single prism (29). The component of the light beam deflected in beam splitter (27) has the shortest optical path and the component deflected in prism (29) the longest optical path. The individual beam components are deflected by means of prisms (30, 31) and a beam splitter (32) so that the same image is displayed on the camera sensor (19) in succession, with the displays originating from different focal planes. The beam component not deflected in the beam splitter (32) can be used for other purposes such as checking via an eyepiece.

The three images (23, 24, 25), which contain the same image in specific different focal planes, are relayed to the unit (15). This unit performs the signal conditioning in such a way that from the images (23, 24, 25) partial images (36, 37, 38) are masked, which are passed on to the unit (16) for calculation of one or more focus criteria. Thus for the further focusing process it is only the content of the partial images (36, 37, 38) that have a role to play. Here the focusing is on an individual object (40, 40', 40") within the partial image, without this process being influenced by the other image components. The position and size of this partial image or also several partial images is determined by the image processing system (12) and forwarded to the unit (15) for signal conditioning.

The evaluation of the partial images (36, 37, 38) comprises passing on from these only certain grey scales which are above or below a set grey scale threshold or between grey scale thresholds. The ranges of grey scale values or the grey scale value thresholds can be specified but can also be calculated by the image processing system (12) from the current image. For example, it can be provided that only relatively dark events (nuclei, in particular dyed nuclei) are of interest, so that only dark picture elements are forwarded to the unit (16) for evaluation, while lighter picture elements are suppressed in the unit (15). The determination of relevant grey scale thresholds can, for example, take place in a grey scale histogram.

.

Furthermore, other evaluations or additional influencing of the partial images (36, 37, 38) are possible in the unit (15). In particular, filtering in order to reduce the image noise, or colour selections can be performed, in particular if the autofocus camera (14) and the camera (10) are colour cameras.

The signals from the partial images (36, 37, 38) acquired in the unit (15) by means of the evaluation are passed on to the unit (16) for calculation of one or more focus criteria. In this unit (16) the signals corresponding to the three partial images (36, 37, 38) are separated from one another so that in each of these specifiable focus criteria calculations can be made. The focus criterion or criteria can be specified and defined. It is, however, also possible for the image processing system (12), according to the image content, to define and specify one or more focus criteria. A focus criterion may, in particular, be a contrast level. For each of the three partial images (36, 37, 38), therefore, one or more focus criteria can be obtained. Here it can be provided that in the event of insufficient evidence of a focus criterion of this kind feedback is given to the image processing system (12), with which a request is made for a new strategy for the unit (15) for the signal conditioning and for the unit (16) for calculating the focus criterion or criteria.

5

10

The triplet of focus criteria is relayed to the unit (17) for calculation of the manipulated variables. The calculation of the manipulated variable is carried out using the known dual-out-of-focus principle or the multi-out-of-focus principle and/or using further criteria, in particular already known information.

The units (15, 16 and 17) preferably have fast electronics, so that within very short setting times the correct focus value is arrived at. For the same focusing quality, but with significantly longer time being taken for the focus adjustment, the entire equipment arrangement can be simplified, by simulating the units (15, 16 and 17) in the image processing system (12) by software, wherein the signal from the imaging camera (10) can be used for the input signal, this taking three images at specific different focus settings.

## Claims

- 1. Method for automatic focusing on objects in the image processing of microscopic preparations, with an electronic imaging camera which captures images on an image generation system and supplies these to an image processing system, characterised in that a partial image with an object is formed, which is focused upon in a control loop, wherein from the partial image signals are conditioned, by means of which one or more focus criteria are calculated, from which a manipulated variable is derived for a focus controller.
- 2. Method according to claim 1, characterised in that the manipulated variable is derived in accordance with the dual-out-of-focus principle, for which an image is captured in three different focal planes alongside each other at a defined distance.
- 3. Method according to claim 2, characterised in that the image is captured simultaneously in three focal planes via optical paths with defined differences in length.
- 4. Method according to one of claims 1 to 3, characterised in that the images from a separate autofocus camera are captured at the image generation system and passed on to the signal evaluation.
  - 5. Device for automatic focusing on objects in the image processing of microscopic preparations, with an electronic imaging camera, which is arranged between an image generation system and an image processing system, characterised in that a control loop for a focus controller (13) is provided, containing means (10, 14) for generating an image (23, 24, 25), means (15) for generating a partial image (36, 37, 38) containing a relevant object and for conditioning the partial image into signals, means (16) for calculating at least one focus criterion from these signals and means (17) for deriving manipulated variables for the focus controller (13).
  - 6. Device according to claim 5, characterised in that a separate autofocus camera (14) for generating the image evaluated in the control loop is provided.
- 7. Device according to claim 6, characterised in that between the autofocus camera (14, 19) and the image generation system (11) an optical device (18, 20, 21, 22; 27, 28, 29, 30, 31, 32) is arranged which, in order to generate the same image in three different focal planes, has three paths with defined optical path differences.

1 Page(s) of drawings follow

40

5

10

25

30

# DE 42 26 523 A1

Page left intentionally blank

Drawings

Number: Int. Cl.<sup>5</sup>: Disclosure date:

**DE 42 26 523 A1 G 02 B 7/28**17 February 1994

